

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1927-1928. — N° 186

SUR
L'ABSENCE DE GLYCÉRINE
DANS LE SANG NORMAL

(Travail du Laboratoire de chimie biologique).

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
Mention " **PHARMACIE** "

présentée et soutenue publiquement le jeudi 26 juillet 1928

PAR

Jean-Marie-Charles DE COQUET

Né à LANGON (Gironde), le 15 juin 1893.

Examineurs de la Thèse	{	MM. DENIGÈS, professeur... ..	<i>Président.</i>
		DUPOUY, professeur.....	{ <i>Juges.</i>
		LABAT, professeur.....	
		GOLSE, agrégé.....	

BORDEAUX
IMPRIMERIE DE L'ACADÉMIE ET DES FACULTÉS

Y. CADORET
17, RUE POQUELIN-MOLIÈRE, 17

1928

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1927-1928. — N° 186

SUR
L'ABSENCE DE GLYCÉRINE
DANS LE SANG NORMAL

(Travail du Laboratoire de chimie biologique).



THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
Mention " PHARMACIE "

présentée et soutenue publiquement le jeudi 26 juillet 1928

PAR

Jean-Marie-Charles DE COQUET

Né à LANGON (Gironde), le 15 juin 1893.

Examineurs de la Thèse	{	MM. DENIGÈS, professeur... ..	<i>Président.</i>
		DUPOUY, professeur.....	{ <i>Juges</i>
		LABAT, professeur.. ..	
		GOLSE, agrégé.....	



BORDEAUX
IMPRIMERIE DE L'ACADÉMIE ET DES FACULTÉS

Y. CADORET
17, RUE POQUELIN-MOLIÈRE, 17

1928.

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS..... Doyen.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. LANELONGUE, BADAL, POUSSON, MOURE, PRINCETEAU,
W. DUBREUILH, RIVIÈRE

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale.....	VERGER.	Zoologie et parasitologie.....	MANDOUL.
id.....	CASSAET.	Médecine expérimentale.....	MAURIAC.
Clinique chirurgicale.....	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique.....	TEULIÈRES.
id.....	BÉGOUIN.	Clinique chirur. infantile et orthopédie..	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales...	CARLES.	Clinique gynécologique.....	GUYOT.
Clinique d'accouchements.....	N.	Clinique méd. des maladies des enfants..	CRUCHET.
Anatomie pathol. et microscopie clinique.	SABRAZÈS.	Chimie biologique et médicale.....	DENIGÈS.
Anatomie.....	VILLEMIN.	Physique médicale et pharmaceutique....	SIGALAS.
Anatomie générale et histologie.....	G. DUBREUIL.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques.	LE DANTEC.
Physiologie.....	PACHON.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène.....	AUCHÉ.	Clinique des maladies des voies urinaires.	DUVERGEY.
Médecine légale et déontologie.....	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales.	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	PORTMANN.
Chimie.....	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée.....	BARTHE.
Botanique et matière médicale.....	BEILLE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie..	SELLIER.
Pharmacie.....	DUPOUY.		

MM. LABAT (Pharmacie). — DELAUNAY (Physiologie).
MICHELEAU, LEURET, DUPÉRIÉ (Médecine générale).



AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie.....	DUBECQ.	Maladies mentales.....	PERRENS.
Histologie.....	LACOSTE.	Chirurgie générale.....	PAPIN.
Anatomie pathologique.....	MURATET.	id.....	JEANNENEY.
Parasitologie et sciences naturelles.....	R. SIGALAS.	id.....	CHARRIER.
Histoire naturelle pharmaceutique.....	FOURMENT.	id.....	LOUBAT.
Médecine générale.....	CREYX.	Obstétrique.....	PERY.
id.....	BONNIN.	id.....	FAUGÈRE.
id.....	AUBERTIN.	Ophtalmologie.....	BEAUVIEUX.
id.....	DAMADE.	Dermatologie et syphiligraphie.....	JOULIA.
id.....	PIÉCHAUD.	Pharmacie.....	GOLSE.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Clinique dentaire.....	GAVALIÉ.	Démonstrations et préparations pharmac..	LABAT.
Médecine opératoire.....	PAPIN.	Pharmacie chimique.....	GOLSE.
Ophtalmologie.....	CABANNES.	Chimie minérale.....	GOLSE.
Puériculture.....	ANDÉRODIAS.		

Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes. MM. N.
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle..... GOURDON.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A MES MAITRES

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DENIGÈS

*Professeur de Chimie biologique à la Faculté de Médecine et de Pharmacie
de Bordeaux,*

Docteur ès sciences,

Associé national de l'Académie de Médecine,

Officier de la Légion d'honneur,

Officier de l'Instruction publique.

A l'occasion de ce travail, permettez-moi, mon cher Maître, de vous remercier de l'affectueuse sollicitude que vous m'avez toujours témoignée, ainsi que des bons conseils et encouragements que vous m'avez prodigués au cours de ces recherches.

SUR

L'ABSENCE DE GLYCÉRINE

DANS LE SANG NORMAL

(Travail du Laboratoire de chimie biologique.)

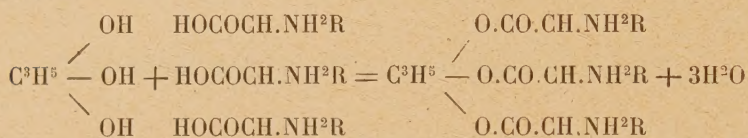
A la suite des travaux de M. Nicloux sur la présence constante de la glycérine dans le sang, on admet universellement que ce triolcool est un constituant normal du liquide hémattique.

Partant de cette affirmation que l'autorité si légitime de l'expérimentateur hors de pair qu'est le professeur Nicloux rendait incontestée, divers biochimistes ont formulé des hypothèses sur le rôle que pouvait jouer ce corps dans le métabolisme.

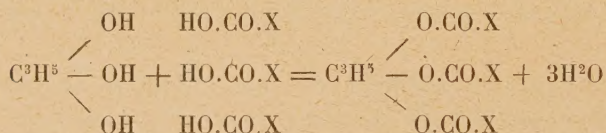
Le professeur Maillard, en particulier, qui avait déjà montré que les acides aminés chauffés vers 170 degrés, en milieu anhydre, en présence de glycérine agissant comme catalyseur, se soudaient en chaînes polypeptidiques, émit l'idée que la protéogénèse naturelle était aussi d'ordre glycérocatalytique, faisant ainsi jouer à la glycérine du sang un rôle capital dans la synthèse des protides.

De même, disait-il, que la synthèse des graisses qui ne se fait *in vitro* qu'à haute température et en milieu peu hydraté réussit chez les êtres vivants à température basse et en milieu aqueux, de même l'éthérification glycérique des amino-acides, point de départ de la synthèse peptidogène, peut avoir lieu,

dans les mêmes conditions, par le jeu du même système chimique. Si l'intestin, par exemple, possède — et cela est — un système lipothétique ayant pour fonction d'éthérifier la glycérine par des carboxyles, il suffit de ce seul et même système pour réaliser à la fois la synthèse des graisses et celle des albuminoïdes, selon qu'il emprunte les carboxyles aux acides gras ou aux acides aminés. Pour Maillard, la protéogénèse naturelle consisterait d'abord en une éthérification glycérique des acides aminés.



Cette éthérification est tout à fait superposable, biologiquement comme chimiquement, à l'éthérification des acides simples qui donne les graisses.



Ensuite, la rupture des glycérides instables ainsi formés enchaîne les tronçons des amino-acides, tandis que la glycérine régénérée peut servir à de nouvelles synthèses des graisses à l'instar des catalyseurs.

Cette idée des plus ingénieuses nécessitait, pour être définitivement élucidée, l'analyse répétée de nombreux échantillons de sang prélevés dans les conditions les plus variées d'alimentation, de régime, etc. Or, la technique sur laquelle M. Nicloux avait étayé ses conclusions, par la grosse masse de sang qu'elle nécessite par sa minutie, sa lenteur, ses laborieux détails, ne se prête nullement à des dosages multipliés et est inapplicable lorsque, comme c'est presque toujours le cas en semblable expérimentation, on ne dispose que de minimes quantités de liquide hématique.

Mettant à profit les fructueux essais que nous avons faits pour élaborer un micro-dosage de la glycérine dans les vins les plus sucrés reposant sur une chromo-réaction spécifique de ce composé publiée en 1909 par M. Denigès et reposant sur sa transformation facile en dioxyacétone puis en méthylglyoxal et, finalement, dans la condensation de ce dernier composé avec la codéine en milieu sulfurique, nous avons pensé qu'en l'adaptant au cas particulier du sang, elle pourrait permettre d'apporter une solution pratique à ce difficile problème de chimie analytique.

Nos premiers essais nous ayant conduit à des résultats négatifs et considérant, avec la quasi-unanimité des chimistes, malgré les controverses d'ailleurs toutes théoriques qui avaient eu lieu, en 1903, entre MM. Nicloux et Mouneyrat, comme d'une exactitude absolue les affirmations de M. Nicloux touchant la présence constante, à la dose de 20 à 45 milligrammes par litre, de la glycérine dans le sang, nous fûmes conduit à reprendre intégralement les expériences de ce Maître.

On sait que pour mesurer la proportion de glycérine existant dans le sang, M. Nicloux a proposé la méthode suivante dont voici les grandes lignes :

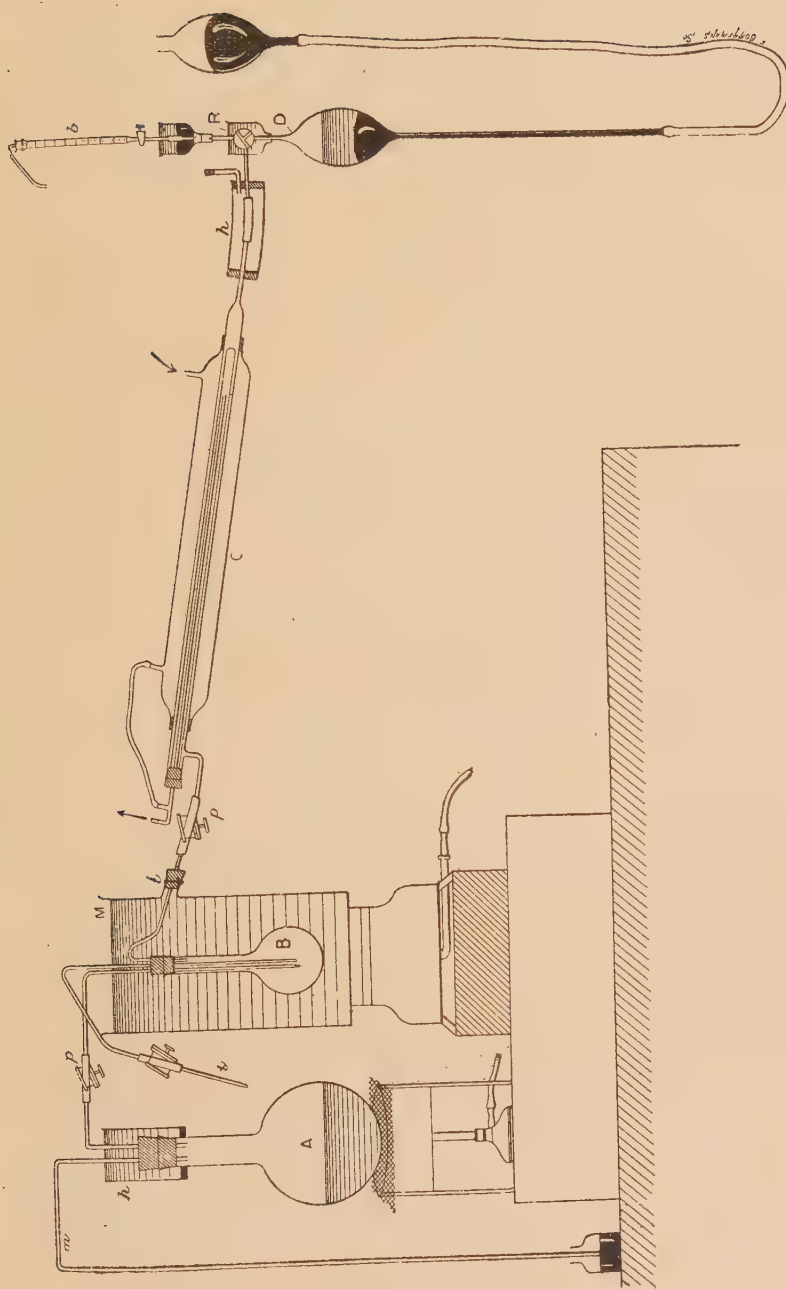
On porte à l'ébullition, dans une grande capsule tarée, 2.500 cc. d'eau distillée. On ajoute alors 62 cc. 5 d'acide acétique à 1 p. 100 en poids, puis on porte le contenu de la capsule tarée, de nouveau, à l'ébullition et on y ajoute 250 cc. de sang normal. La précipitation des matières albuminoïdes s'effectue. On filtre dans un flacon taré. La précipitation est excellente, le liquide est clair, presque incolore, légèrement jaunâtre sous une très grande épaisseur. Cette grande quantité de liquide est soumise à l'évaporation au bain-marie. Le volume est réduit ainsi à 624 cc. La moitié de ce volume est soumise successivement à la distillation et à l'entraînement en se conformant à la technique suivante :

En principe, et pour assurer la non-décomposition de la glycérine, on opère avec de la vapeur d'eau à 100 degrés dans le vide absolu de la trompe à mercure. L'appareil se compose

d'un ballon de 1.500 cc. rempli d'eau qui constitue le générateur de vapeur. Il est fermé par un bouchon à deux trous dont l'un est traversé par un petit tube deux fois coudé plongeant dans le mercure et qui sert de manomètre et de tube de sûreté. L'autre donne passage à un tube coudé, à angle droit, raccordé par un caoutchouc et une pince de Mohr, à un ballon de 250 cc. fermé par un bouchon. Ce bouchon est traversé, d'autre part, par un tube semi-capillaire, coudé à angle droit, servant à l'introduction du liquide à distiller, et par un tube coudé en col de cygne en communication avec le réfrigérant. Le petit ballon peut être entièrement entouré d'eau bouillante par une marmite en fer-blanc; enfin, le tout est en relation avec le réservoir d'une pompe à mercure de Gréhan.

Le liquide glycérineux introduit dans le petit ballon entouré à moitié d'eau chaude, la distillation s'effectue et le liquide condensé va se réunir dans le réservoir fixe de la pompe. L'évaporation terminée et le contenu du ballon étant à sec, on entoure le ballon d'eau bouillante, on fait passer la vapeur qui effectue l'entraînement de la glycérine et se condense dans le réfrigérant. Le liquide entraîné se réunit dans le réservoir fixe de la pompe; on le recueille successivement et aisément en élevant le réservoir mobile et en faisant passer le liquide dans un récipient approprié par l'intermédiaire d'une burette. On s'assure de la fin de l'opération en isolant la dernière partie de liquide condensé; sur 5 cc. de celui-ci, on constate au bichromate l'absence complète de substances réductrices.

Le volume total des liquides obtenus est de 3.635 cc. On concentre dans un ballon jusqu'à 65 cc. et on obtient un liquide légèrement coloré. On le soumet à une nouvelle distillation et à un nouvel entraînement. L'ensemble du liquide de distillation et de celui d'entraînement est de 310 cc.; on concentre ces liqueurs jusqu'à 37 cc. On les additionne de 40 cc. d'acide sulfurique pur et concentré et on titre par réduction de la solution de bichromate de potasse, comme on va le voir plus loin.



(Extrait du *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*.)

Appareil de Nicloux.

Pour nous familiariser avec sa technique, nous avons d'abord remplacé le sang par une solution titrée de glycérine renfermant 20 milligrammes de ce corps par litre, et nous avons procédé au dosage de cette solution comme s'il se fût agi de sang; nous n'avons cependant pas ajouté l'acide acétique, qui ici n'avait plus sa raison d'être. L'opération terminée, nous avons fait deux parts du liquide obtenu; sur l'une d'elles, nous avons dosé la glycérine par le procédé au bichromate, et sur l'autre, nous avons fait la même opération en employant la chromo-réaction de M. Denigès. Les chiffres que nous avons trouvés étaient, du reste, superposables.

Les nombreux dosages que nous avons tentés avec des solutions titrées nous ont permis de nous rendre compte de toutes les précautions que l'on doit prendre pour entraîner la totalité de la glycérine. C'est ainsi que, comme l'avait déjà constaté M. Nieloux (1), il nous a été possible de nous faire une idée du rôle prépondérant que joue le degré du vide dans ces expériences; aussi, à défaut du dispositif de Gréhan, nous avons employé une pompe à huile, modèle « Geryx », puis terminé le vide grâce à une trompe à vapeurs de mercure. A l'occasion de chaque expérience, le degré du vide fut constaté avant et après l'opération, lorsque l'appareil avait repris la température ambiante. Nous avons également pu constater qu'une des conditions de bon entraînement de la glycérine réside dans la température de l'eau du ballon générateur de vapeur; ce liquide doit être maintenu aux environs de 100 degrés et doit avoir été bouilli avant l'opération dans le ballon lui-même pour en chasser les gaz. La vitesse de la distillation a également son importance; c'est ainsi que faisant varier la durée de l'opération, nous avons obtenu les meilleurs résultats en recueillant 1 litre de distillat en huit heures de chauffe; dans ces conditions, les 5 milligrammes de glycérine mise en œuvre se retrouvaient intégralement dans le premier litre de liquide d'épuisement.

(1) *Loc. cit.*

Après ces exercices préalables, qui nous avaient permis de nous rendre compte de la valeur réelle de la méthode que nous allions employer, nous avons entrepris d'extraire la glycérine du sang en nous conformant scrupuleusement à la technique de M. Nicloux. Après la concentration qui suit la seconde distillation, nous avons dosé la glycérine sur 15 cc. de liquide en employant le procédé de réduction du bichromate et les résultats rapportés au litre nous ont donné une teneur voisine de 25 milligrammes. Une autre fraction de 10 cc. fut additionnée de 0 cc. 1 de brome en vue d'un dosage chromométrique et agitée fortement dans son tube pour dissoudre le brome; suivant le rite que nous avons fixé par ailleurs (1), le tube porté au bain-marie fut retiré après vingt minutes, porté aussitôt à l'ébullition pour chasser les vapeurs de brome, et le volume du liquide rétabli après refroidissement avec de l'eau distillée. Dans un tube à essai, nous avons placé 1 cc. du liquide précédemment obtenu, 1 cc. d'une solution alcoolique de codéine à un vingtième et, tenant le tube immergé dans une cuve d'eau, nous avons ajouté doucement 5 cc. de SO_4H_2 pur $D = 1,84$, et avons agité énergiquement. Après dix minutes de refroidissement, nous avons porté le tube au bain-marie pour obtenir le dérivé coloré que nous devions comparer avec les étalons. Après cinq minutes exactement comptées de séjour au bain d'eau bouillante, le tube fut retiré et, à notre grand étonnement, il ne s'était pas formé le dérivé coloré vert que l'on obtient avec les solutions de glycérine.

Nous avons alors multiplié nos essais et chaque fois, bien que suivant à la lettre le texte, nous arrivions au même résultat décevant d'un liquide réduisant le bichromate en milieu sulfurique et ne donnant pas la réaction colorée de la glycérine. Dans ces conditions, nous avons été amené à nous demander si la glycérine ne se serait pas transformée dans le sang lui-même durant la période qui précède le dosage ou si, au cours de l'ana-

(1) *Loc. cit.*

lyse, elle ne subirait pas de transformations qui la masqueraient à sa réaction habituelle.

Pour tâcher d'élucider ces questions, nous avons entrepris une série de dosages que nous avons menés de la façon suivante. Du sang, provenant tantôt du sacrifice d'un bœuf, tantôt de celui d'un cheval, fut recueilli par nos soins et apporté chaud encore au laboratoire.

Trois ballons jaugés de 250 cc. furent remplis de ce sang. Le ballon n° 2 fut additionné de 5 milligrammes de glycérine, soit 20 milligrammes par litre; le ballon n° 3 en reçut 0 mill. 5, soit 2 milligrammes par litre, et l'on procéda alors au dosage dans les n°s 1, 2 et 3. Les résultats furent les suivants : Le n° 1 nous fournit un produit qui, dosé au bichromate de potasse, correspondait à 25 milligrammes de substances réductrices, calculées en glycérine, mais le liquide ne donnait pas la réaction spécifique de ce corps. Le n° 2 nous donna un distillat qui, concentré, dénotait la présence de 45 milligrammes de substances réductrices, comptées en glycérine, par litre de sang, et le dosage chromométrique nous permit de retrouver la glycérine ajoutée. Le n° 3 demandait pour sa réduction un chiffre de bichromate identique au n° 1, mais les 2 milligrammes de glycérine ajoutés par litre de sang se retrouvaient intégralement, par chromométrie.

Ces essais, faits primitivement avec du sang de bœuf, furent repris en employant du sang de cheval et les résultats furent toujours qualitativement identiques.

Quelles conclusions pouvions-nous déduire de ces expériences ?

1° Que le liquide de distillation du sang normal réduit le bichromate, mais ne donne pas la réaction spécifique de la glycérine.

2° Que lorsque ce même sang est additionné de glycérine même à doses faibles (2 milligrammes par litre), ce produit se retrouve non altéré et intégralement, tandis qu'à côté de lui nous obtenons un corps réduisant le bichromate.

Quel pouvait donc être ce corps qui, ainsi entraîné par la

vapeur d'eau, réduit le bichromate de potasse et n'est pas de la glycérine ?

Nous avons remarqué que le liquide d'oxydation par l'eau bromée du liquide de distillation fournit une solution donnant une coloration violette, lorsqu'on tentait sur lui la réaction de Legal, indice de la présence d'acide pyruvique, tandis que le liquide initial ne donnait rien de semblable. Dans ces conditions, nous avons été conduit à nous demander s'il ne s'agirait pas d'acide lactique et nous avons pu l'identifier grâce à la réaction spécifique de ce corps, indiquée, en 1909, par M. Denigès.

On sait que cet auteur transforme l'acide lactique en aldéhyde en utilisant les propriétés déshydratantes de l'acide sulfurique pur à la température de 100 degrés centigrades et qu'il identifie le corps ainsi formé avec une solution alcoolique de codéine à un vingtième, qui fournit dans ces conditions une teinte pouvant aller du jaune paille au jaune dichromate, suivant la concentration, ou encore une solution alcoolique de gaïacol à un vingtième, qui donne des teintes variant entre le rose pâle et le rouge cerise.

Nous avons par la suite, en adaptant au liquide de distillation la technique indiquée par le professeur Chelle pour le dosage de l'acide lactique dans le sang, pu doser ce corps. Les chiffres que nous a fournis la réaction chromométrique étaient superposables à ceux donnés par la méthode de réduction du bichromate de potasse, c'est-à-dire voisins de 25 milligrammes par litre.

En présence de ces faits, la question se posait à nous de savoir si dans l'acide lactique les trois atomes de carbone sont oxydés comme ils le sont dans la glycérine, et pour nous en rendre compte, nous avons fait deux solutions renfermant l'une 0 gr. 90 d'acide lactique par litre, la seconde 0 gr. 92 de glycérine par litre, et nous avons pris, pour établir ces solutions, les précautions que nous indiquerons plus loin. En possession de ces deux solutions, nous avons procédé au dosage de la façon suivante : Après avoir préparé une liqueur de bichromate à 9 gr. 50 par litre et en avoir garni une burette graduée en

dixièmes de cc., nous avons mis dans un premier tube à essai 5 cc. de la solution de glycérine et dans un second 5 cc. de la solution d'acide lactique. Dans chaque tube, nous avons ajouté 10 cc. d'acide sulfurique pur $D = 1,84$, puis chauffé chacun d'eux au voisinage de l'ébullition. Nous avons versé dans le premier, par petites fractions, du bichromate en ayant soin d'agiter et de chauffer légèrement après chaque addition de bichromate, et cela jusqu'au moment où la teinte passe du vert bleu au vert jaune persistant. La même opération fut faite avec le second tube et les résultats furent les suivants.

Le tube de glycérine nécessita par son oxydation 3 cc. 60 de bichromate, alors que la théorie exigeait 3 cc. 68; quant à l'acide lactique, il nous a fallu 3 cc. 65 pour obtenir le même résultat, ce qui tend à prouver que les trois atomes de carbone sont, comme dans la glycérine, intégralement oxydés dans ce dernier corps.

Mais pour être plus certain encore de nos résultats, nous avons voulu doser l'acide carbonique provenant de l'oxydation du carbone dans la glycérine et dans l'acide lactique. Pour cela, nous avons fait appel à la technique si bien étudiée et à l'ingénieux appareil que M. Nicloux a donnés pour le dosage de l'acide carbonique, des carbonates et du carbone organique.

Pour nous familiariser avec cette technique, nous avons, suivant son exemple, dosé des solutions titrées de bicarbonate de potasse, ce qui nous a permis de nous rendre compte de la haute valeur et de la sensibilité de cette méthode dont la nouveauté constitue un très grand progrès sur tous les modes de opératoires en usage jusqu'à ce jour. Les chiffres que nous avons trouvés étaient toujours très proches de la théorie et superposables à ceux fournis par M. Nicloux dans son tableau.

Après ce travail préliminaire, nous avons dosé l'acide carbonique que pouvait fournir le carbone contenu dans des solutions titrées de glycérine et d'acide lactique. Pour cela, nous avons mis dans le ballon-matras de l'appareil de M. Nicloux 15 cc. d'acide sulfurique pur $D = 1,84$, puis, après avoir monté l'appareil, nous avons fait à l'intérieur un vide aussi poussé

que possible avec notre pompe à vide; cette opération terminée, nous avons mis en place le tube à renflement sacculaire, garni de soude 2 N, préparée suivant les indications si minutieusement décrites par M. Nicloux, et avons à nouveau fait le vide dans la totalité de l'appareil. Le ballon matras a alors été plongé dans un bain d'huile dont on élevait lentement la température jusqu'à 140 degrés et le réfrigérant mis en marche. Le liquide à essayer fut versé dans la petite éprouvette latérale et passé doucement, en ouvrant le robinet, dans le ballon; on versa alors par petites quantités la solution de bichromate N/20, de manière à entraîner les traces de liquide à essayer qui auraient pu être retenues par adhésivité sur le verre, et les additions de bichromate furent continuées jusqu'à ce qu'on ait ajouté un volume plus que suffisant de ce corps pour oxyder le carbone. Les quantités respectives de liquide à essayer et de bichromate étaient calculées pour que leur volume total fût toujours inférieur à celui de l'acide sulfurique mis en œuvre.

Nous avons employé le bain d'huile, car ni le simple bain-marie, ni les solutions salines saturées ne nous donnaient une température suffisante pour que tout le carbone fût oxydé et les résultats que nous obtenions dans de pareilles conditions variaient surtout avec la durée de l'opération.

Le reste du dosage était conduit suivant le rite opératoire fixé jusque dans ses moindres détails par M. Nicloux.

Un fait capital dans ces expériences était la préparation des solutions titrées que nous allions soumettre à l'analyse; de leur exactitude, en effet, dépendait la valeur des chiffres que nous allions trouver. Voici comment nous nous y sommes pris pour les établir.

1° *Solution d'acide lactique.* — Après nous être assuré de la pureté de notre échantillon, nous avons pesé 2 grammes d'acide lactique et les avons placés dans un ballon jaugé de 200 cc., avec environ 150 cc. d'eau distillée, puis le liquide fut porté à une douce ébullition et maintenu ainsi pendant quatre heures pour transformer en acide lactique les lactones que pouvait contenir cette solution. Après cette ébullition prolongée, au

cours de laquelle on ajoutait de l'eau distillée pour remplacer celle perdue par évaporation, le liquide refroidi fut passé dans un ballon d'un litre et le volume complété avec de l'eau distillée. Une prise de 10 cc. et un dosage par acidimétrie, avec une solution de soude N/20 préparée comme l'indique M. Nicloux, et en présence de rouge de méthyle, nous indiqua la dilution à faire pour obtenir une solution d'acide lactique renfermant 1 gramme p. 100 de ce corps.

2° *Solution de glycérine.* — Pour l'établir, nous avons mis à profit les remarques que nous avons faites dans un précédent travail (1). On sait que lorsqu'on porte au bain-marie à 100 degrés une glycérine légèrement hydratée, celle-ci commence par perdre son eau en même temps qu'une très faible quantité de glycérine, puis, après le départ de la totalité de l'eau, il s'établit une perte horaire de glycérine proportionnelle à la surface d'évaporation et fixe pour une même pression atmosphérique. Dans ces conditions, nous avons chauffé dans une capsule de platine 5 grammes de glycérine, et lorsque, après un séjour de quelques heures au bain-marie, nous avons obtenu de la glycérine anhydre, nous l'avons pesée avec toutes les précautions habituelles, puis passée dans un ballon jaugé dont le volume fut complété à 100 cc. avec de l'eau distillée. Par dilution, nous avons ensuite établi une solution renfermant un gramme de glycérine pour cent.

Les deux solutions furent soumises à l'analyse en suivant la technique précédemment indiquée, et nous avons trouvé sur les très nombreux dosages que nous avons faits des chiffres voisins de ceux qu'indique la théorie, c'est-à-dire :

0 cc. 730 de CO_2 à 0° et 760^m par milligramme de glycérine.

0 cc. 746 de CO_2 à 0° et 760^m par milligramme d'acide lactique.

(1) *Loc. cit.*

C'est ainsi que nous avons trouvé, pour une solution à 1 % de glycérine :

VOLUME DE LA SOLUTION mise en œuvre	SOUDE N/20 CONSOMMÉE	CHIFFRE DE SOUDE CORRIGÉ	ACIDE CARBONIQUE CORRESPONDANT	ACIDE CARBONIQUE THÉORIQUE pour 3 atomes de C oxydés	ACIDE CARBONIQUE THÉORIQUE pour 2 atomes de C oxydés	ACIDE CARBONIQUE THÉORIQUE pour 1 atome de C oxydé
cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc
1	13,2	13,1	7,33	7,46	5,26	2,62
0,8	10,7	10,6	5,93	5,96	3,97	1,98
0,6	8	7,9	4,42	4,47	2,98	1,49
0,4	5,3	5,2	2,91	2,98	1,98	0,99
0,2	2,6	2,5	1,40	1,49	0,99	0,49

Avec une solution d'acide lactique à 1 %, nous avons eu les chiffres suivants :

VOLUME DE LA SOLUTION mise en œuvre	SOUDE N/20 CONSOMMÉE	CHIFFRE DE SOUDE CORRIGÉ	ACIDE CARBONIQUE CORRESPONDANT	ACIDE CARBONIQUE THÉORIQUE pour 3 atomes de C oxydés	ACIDE CARBONIQUE THÉORIQUE pour 2 atomes de C oxydés	ACIDE CARBONIQUE THÉORIQUE pour 1 atome de C oxydé
cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc
0,9	11,7	11,6	6,49	5,57	4,38	2,19
0,7	9,4	9	5,04	5,11	3,40	1,70
0,5	6,4	6,3	3,52	3,65	2,43	1,21
0,3	3,8	3,7	2,07	2,19	1,46	0,73
0,1	1,3	1,2	0,67	0,73	0,48	0,24

CONCLUSIONS

Les travaux de M. Nicloux sur le dosage de très faibles quantités de glycérine par la méthode d'oxydation au bichromate de potasse en milieu sulfurique, ses études sur l'entraînement de la glycérine dans le vide par la vapeur d'eau à 100 degrés et son remarquable procédé de dosage du carbone organique, joints aux réactions spécifiques si sensibles indiquées par M. Denigès pour l'identification de la glycérine nous ont permis de mener à bonne fin une détermination qui faute d'une réaction spécifique lorsqu'elle fut entreprise, n'avait pu, jusqu'à présent, être étayée sur des bases expérimentales indiscutables. Nous espérons donc, grâce à ces Maîtres, avoir démontré d'une façon certaine que, dans les conditions où nous nous sommes placé, le sang circulant ne contient pas de glycérine.

VU : *Le Doyen,*
C. SIGALAS.

VU, BON A IMPRIMER :
Le Président,
G. DENIGÈS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 19 juillet 1928.
Le Recteur de l'Académie,
F. DUMAS.

BIBLIOGRAPHIE

- CHELLE. — Dosage de l'acide lactique dans le sang. *Bull. de la Soc. de pharmacie de Bordeaux*, mai 1914.
- COQUET (DE). — Microdosage par colorimétrie de la glycérine dans les vins même sucrés. Thèse de la Faculté de Bordeaux, n° 47, 1927.
- DENIGÈS. — Précis de chimie analytique, p. 834.
- Nouvelle réaction des alcools polyatomiques. Étude spéciale de la glycérine. *Bull. de la Société chimique de France*, 4^e série, t. V, 1909, p. 421 et suiv.
 - Recherche et identification de la glycérine par de nouvelles réactions. *Bull. de la Soc. de pharmacie de Bordeaux*, avril-juin 1909.
 - Théorie des réactions colorées de la dioxycétone. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1^{er} février 1909, p. 282.
 - Le méthylglyoxal réactif général de coloration en chimie organique. *Bull. de la Soc. de pharmacie de Bordeaux*, 1909.
 - Réaction très sensible des acides lactique et glycolique. *Bull. de la Soc. de pharmacie*, mai 1909; *Bull. de la Soc. chimique de France*, 4^e série, t. V, p. 647, 1909.
 - Réactions analytiques de quelques fonctions organiques fondées sur leurs transformations en dérivés aldéhydiques et cétoniques. *Annales de chimie et de physique*, 8^e série, t. XVIII, octobre 1909, p. 149.
- MOUNEYRAT. — Y a-t-il de la glycérine libre dans le sang normal? *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 1207, 1438, 1596, 1599.

NICLOUX (M.). — Dosage et analyse de très petites quantités de glycérine pure. *Bull. de la Soc. chimique*, 13 février 1903, p. 221-223.

- Sur l'entraînement de la glycérine par la vapeur d'eau. *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 282-283.
- Méthode de dosage de la glycérine dans le sang. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1903, CXXXVI, p. 559-561; *Comptes rendus de la Société de biologie*, 1903, p. 284-286.
- Existence de la glycérine dans le sang normal. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1903, CXXXVI, p. 764-767; *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 391-393.
- Sur la glycérine du sang au cours : 1° du jeûne; 2° de la digestion des graisses. *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 794; *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1903, CXXXVI, p. 1576.
- Injection intraveineuse de glycérine, dosage dans le sang, élimination par l'urine. *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 888, 890, 1014.
- Exposé technique des méthodes d'étude; dosage, analyse, séparation de la glycérine; application au dosage dans le sang et dans l'urine. *Journal de physiologie et de pathologie générale*, 1903, p. 803-818.
- Contribution à l'étude physiologique de la glycérine. *Journal de physiologie et de pathologie générale*, 1903, p. 827-842.
- Sur la glycérine normale du sang. Réponse à M. Mouneyrat. *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 1229-1231.
- Sur la glycérine normale du sang. *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 1488-1490; *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 1698-1700.
- Sur l'influence d'un certain nombre de corps réducteurs contenus dans le sang sur le dosage de la glycérine. *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1903, p. 1696.

